



①⑨ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 100 28 901 A 1**

⑥① Int. Cl.<sup>7</sup>:  
**C 07 K 16/00**  
C 07 K 14/195  
A 61 K 38/16  
C 12 N 15/12  
C 12 N 15/63  
A 01 K 67/027

⑳ Aktenzeichen: 100 28 901.0  
㉔ Anmeldetag: 10. 6. 2000  
㉕ Offenlegungstag: 20. 12. 2001

DE 100 28 901 A 1

⑦① Anmelder:  
Brüß, Michael, Dr., 53121 Bonn, DE; Bönisch, Heinz,  
Prof. Dr., 53125 Bonn, DE

⑦② Erfinder:  
gleich Anmelder

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

⑥④ Arminosäuresequenz

DE 100 28 901 A 1

- [0001] 1. Mit Hilfe der Aminosäuresequenz eines G Protein gekoppelten Rezeptors wurde durch Homologiesuche in einer Datenbank ein potentiell Gen für einen neuen G Proteingekoppelten Rezeptor auf dem humanen Chromosom 19 identifiziert. Aus der Gensequenz wurden Oligonukleotide zur Amplifikation des potentiellen Rezeptorgens und dessen abgeleiteter cDNA (mRNA) Sequenz hergestellt und für die PCR-Amplifikation des Gens und der cDNA eingesetzt. Mittels dieser Primer konnte das intronlose Gen aus humaner genomischer DNA kloniert und sequenziert werden. Weiterhin konnte mit anderen Primern die cDNA für die volle kodierende Region des Gens aus einer humanen Gehirn-cDNA-Bank hergestellt werden.
- [0002] Sequenzierung des Gens und der cDNA ergaben folgende Eigenschaften des Gens: das Gen (5640 Basenpaare) enthält (wie viele Gene von G Protein gekoppelten Rezeptoren) keine Introns im kodierenden Bereich. Der kodierende Bereich des Gens (Pos. 2501 bis 3694) besteht aus einem offenem Leseraster von 1194 Basen und kodiert somit ein Protein von 398 Aminosäuren. Hydrophobizitätsanalyse der Aminosäuresequenz ergibt, daß es sich um einen G Protein gekoppelten Rezeptor mit sieben transmembranalen Domänen handelt. Die Aminosäuresequenz ist neu und bisher unbekannt und weist die beste Homologie (87% Identität und 91% Homologie) zum (Endothel-differentiation-gene) Rezeptor EDG-8 der Ratte auf. Dieser Rezeptor gehört zur Familie der Spingosin-1-Phosphat-Rezeptoren welche u. a. wichtige Signalfunktionen auf im Gehirn und anderen Geweben vermitteln. Aufgrund der Homologie unseres neuen Rezeptors zur Familie der EDG-Rezeptoren ist es höchstwahrscheinlich, daß auch dieser Rezeptor zur Familie gehört und das humane Gegenstück zum EDG-8-Rezeptor der Ratte ist. Erste funktionelle Untersuchungen mit dem transfizierten Rezeptor bestätigen diese Annahme. Wir haben dem Rezeptor daher den Namen hEDG-8 gegeben. Weiterhin gehören zu der zu patentierenden Sequenz 2500 Basen des 5' nichttranslatierten Bereichs des Gens, welche vermutlich den Promotor (mit GC Boxen und CAP Signalen) enthalten, sowie 1946 Basen des 3' nichttranslatierten Gen-Bereichs, welcher mehrere typische Polyadenylierungssignale (AATAAA) im Bereich von 4500 bis 4800 enthält.
- [0003] 2. Die Expression dieses Gens wurde mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) und Primern (sense: 5'GTATCTTGCTCTCCAACAG 3'; antisense: 5'CTTGGGAAGACAGTCGTGG 3), welche die kodierende Region des Gens flankieren nachgewiesen. Dazu wurde folgendes Temperaturprogramm für die PCR verwendet: 94°C 1 min, 56°C 1 min, 72°C 3 min, 35 Zyklen. Wir konnten so die volle kodierende cDNA (offenes Leseraster) dieses Rezeptors aus einer humanen Gehirn-cDNA-Bank amplifizieren und klonieren. Hiermit ist die Expression der mRNA dieses Rezeptors in humanem Gehirn eindeutig bewiesen. PCR mit genomischer DNA und diesen Primern ergab eine Bande von identischer Größe und durch Sequenzierung wurde eindeutig bewiesen, daß das Gen intronlos ist. Weiterhin konnte durch Homologiesuche in Datenbanken von exprimierten Sequenzstücken humaner Gene (EST = expressed sequence tags) fünf exprimierte Sequenzen mit 100%iger Identität zu einem Sequenzstück der kodierenden Region des hEDG-8 Gens bzw. mRNA gefunden, welche aus humanen Multiple-Sklerose-Läsionen (3 x), humaner Niere (1 x) und humanem Adenokarzinom (1 x) stammen. Das mehrfache Auffinden von ESTs des hEDG-8 Rezeptors aus Multiple-Sklerose-Läsionen zeigt, dass dieser Rezeptor in den Multiple-Sklerose-Läsionen stark exprimiert wird. Da EDG-Rezeptoren in Oligodendrozyten als Angriffspunkt neu zu entwickelnder Pharmaka gegen demyelinisierende Erkrankungen angesehen werden, ist der EDG-8 ein Rezeptor an welchem solche Pharmaka entwickelt werden können und an welchem dann auch diese Pharmaka angreifen.
- [0004] 3. Die von der cDNA Sequenz abgeleitete Aminosäuresequenz des Rezeptors ist 398 Aminosäuren lang. Hydrophobizitätsanalyse der Aminosäuresequenz ergibt eine putative Sekundärstruktur des Proteins als integrales Membranprotein mit 7 transmembranalen Domänen. Das Protein enthält eine potentielle N-Glykosylierungsstelle im N-terminalen Bereich (Aminosäure Positionen 20). Weiterhin sind in der Aminosäuresequenz sechs potentielle Proteinkinase C Phosphorylierungsstellen (Aminosäure Positionen 22, 100, 146, 237, 309 und 363) enthalten, deren fakultative Phosphorylierung (sofern sie intrazellulär lokalisiert sind) an der Modulation der Rezeptorfunktion beteiligt sein können. In Position 79, 309, 340 und 361 der Aminosäuresequenz befinden sich potentielle Caseinkinase II Phosphorylierungsstellen. Von Aminosäureposition 121 bis 137 findet sich ein typisches Aminosäure-Motiv der Familie der G-Protein gekoppelten Rezeptoren.
- [0005] 4. Einordnung und potentielle Funktionen des zu patentierenden Rezeptors und seines Gens (bzw cDNA; mRNA):
- Der Rezeptor gehört zur großen Genfamilie der G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCRs). Innerhalb dieser Großfamilie zählt er zur Sub-Familie der "Klasse A Rhodopsin-ähnlichen" Rezeptoren. Er besitzt sehr hohe Homologie zur Familie der EDG-Rezeptoren insbesondere zum EDG-8 der Ratte, und stellt somit den humanen EDG-8-Rezeptor dar, welcher bisher unbekannt war.
- [0006] EDG-Rezeptoren werden in unterschiedlichen neuronalen und peripheren Geweben exprimiert, und den einzelnen Rezeptoren kommen verschiedene Funktionen in diesen Geweben durch Kopplung an unterschiedliche second messenger Wege zu. EDG-Rezeptoren sind am Zellwachstum, der Zell-Differenzierung und -Aufrechterhaltung wesentlich beteiligt. Die Rezeptoren sind an wichtigen physiologischen und pathophysiologischen Prozessen beteiligt und spielen eine Rolle bei der Zell-Proliferation, Zell-Entwicklung, Zell-Differenzierung, Zell-Migration, Zell-Apoptose und Zell-Plastizität. Der hier von uns beschriebene humane hEDG-8 Rezeptor wird stark in Multiple-Sklerose-Läsionen exprimiert (und in der Niere und in Adenokarzinomen) und spielt mit höchster Wahrscheinlichkeit eine wichtige Rolle bei der Pathogenese bzw neuen Therapiemöglichkeiten der Multiplen Sklerose und anderer demyelinisierender Erkrankungen.
- [0007] Der von uns klonierte Rezeptor kann rekombinant exprimiert und funktionell untersucht werden. An transfizierten Zellen, welche diesen Rezeptor exprimieren bzw an Plasmamembranen solcher Zellen, können Pharmaka getestet werden, welche Agonisten oder Antagonisten an diesem Rezeptor sind. Solche Studien können als "high throughput screening" für eine Vielzahl an Chemikalien, Naturstoffen und Pharmaka durchgeführt werden (z. B. Agonisten-induzierte [35S]GTP-gamma S Bindung oder second messenger assays oder Bindungsstudien mit Radioliganden) und zur Entwicklung neuer, spezifischer Pharmaka, welche an diesem Rezeptor angreifen genutzt werden.
- [0008] Die von uns beschriebene Gensequenz kann ferner genutzt werden zur Identifizierung von Mutationen oder Po-

# DE 100 28 901 A 1

lymorphismen welche die Funktion des Rezeptors oder die Expression des Gens beeinflussen bei Gesunden und bei erkrankten Patienten. Solche Informationen können dann zur Diagnose von Krankheiten und eventuell auch zu einer Gentherapie eingesetzt werden. Die funktionelle Charakterisierung des von uns beschriebenen 5' Bereichs des Gens (Promotor) kann genutzt werden, um neue Substanzen zu finden welche die Expression dieses Gens in positiver oder negativer Weise beeinflussen.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

# DE 100 28 901 A 1

MBHB-Rezept-15: hEDG-8 Gen

		10	20	30	40	50
	1	TTGCGTCGCTGGCCCCGCCCTCGCCTGCCAGCTCCAGCCCCGCCCGG				
5	51	AGCGGGCTCCGCTCACTCGGTTCAAGGCAGCGCGACTGCGGGTGGCGCAC				
	101	GACCAGGGCGCAGAGTGAGTGGACTGCACTGGACCTTTGGGGGCGCTGGG				
	151	CTGGGCTGACCCGGAGGGGTGCGCCTGGCGGCCACTTTCCCGGTCTAA				
	201	AAAGGCGCACCCTCCTTGCAGGGAGTTCTCCGAACCTTTTCCTGGAGGCC				
10	251	TCTGGGGAGGGGGAAGCTGGGGGCTCCCCAGCTGGGTGCAGGACCTGGGA				
	301	TACGGGTGAAGGTGGCTGGAATCCCCTGGCCACCCCCTCCTGGCCGGGC				
	351	CAC TGCAAGTTTCCATACTTCAGTCCTGCTGCCGGGCAAGCTGGGCGGAT				
	401	GGGGTTGGCCTCCCCCTCAGAGCATGTGTAACCCTGTCTCCCTGTATTG				
	451	GGCTCCCCACCTCCAGCATGGGTGAGCCAGCGACTTCCTGTCTATGTTG				
15	501	CCTGCCCTGATTCTCTGTGTGTGACTGAAGCTCTCTGGGATGTCCGCATC				
	551	CCTGCCCTGTGCAAAAGAGATCCATTCCCCTCCCCAGGCCTTGGCTTCT				
	601	CATCTGGACTTGCATGGGGACTATTTGTGCATGGATGTTTGTGTGGGAGC				
	651	ATGGAAACCTTTGCGCCTGCTTCGATACGAAGCATTTCTTTTGAGCTTCA				
	701	GTTTTCTCATCTGTAAATTAGGACTAAAGGAAGTGGGGATTAATAAGGTC				
20	751	ACAGAGGCAGGTGAGGAGTGTATTACAGTTTAAATGACATGTGTGCCCT				
	801	CTGTAAGAGTCTGTTTGCCTCTTGTGGATTCTCTCCTGTCTCAGGCT				
	851	CTGCCTTAGTAAAATGAGTGAATAGGATCACTTTTTTTTTTTTTTTTT				
	901	TTTTGAGACGGAGTTTCTCTCTTGTCAACCAGGCTGGAGAGCAGGGTGC				
	951	GATCATGGCTCACTGCAGCCTCGGCCTCCCAGGCTCAAGTGATCCTCCCG				
25	1001	CCTCAGTCTCTTGAGTAGCTGGGACTATAGGGGCATAACACCACACCTGG				
	1051	CTAATTTTTAAATTTTTTTGTAGAGATGAAGTCTTAGTATGTTGCCAAG				
	1101	CTGGTGTGCAACTCCTGGGCTCAAGTGATACTCCACCTCGGCCTCCCAA				
	1151	AGTGCTGGGATTACAGGCGAAAGCCACTGTGCCTGGCCAAGGAGCAACTT				
	1201	TCTCATGGGGTTTTTGGGTGGATGAGGGGGTTTTTGGCAGGAAAAGCTTG				
30	1251	TATGCAGTGAGACAAGAGTGTGGAGTGTGGTGCCTGGGCCCCAGGCTAG				
	1301	TGTGAGTGGAGGTTGTGAAATTGTGGCCTGTGCCACTGGGTGGGAGACCC				
	1351	TGTATTCGTGTGACTGAATTTTGGTTCGTGTGTTTCTGCCTGCGTCAC				
	1401	TCTGTTCTGTATGATGTATTTTTTAGTTTCCCTGATAGTGTGTGACTGT				
	1451	TGTGTTTTGCCCTTGTAGTGTGTGCTGTATTTGTGTGTCTCTTCTGTGT				
35	1501	GTGTTGCGTTTGTGTGCGTCTGTGTGTTTACTGTTACGTCTCTGGAAC				
	1551	CCCTGCTTGTGTGTTTGTGTGTGTGTTTGTGAGACAAAGTCTTGCTCTGT				
	1601	TGTCTTGGCTGGAGTACAGTGGCACAATCAATGCTCACTGACTGCAGCCT				
	1651	TGACCCCGCGGGCTCAAGTGATCCTCTCACCTCAGCTGGGACTCCACTGA				
	1701	GTAGCTTGGACTATAGGCATACACCAACACGTCCCGGCTAATTTTTGTAG				
40	1751	AAACGGGGTTCTCCTATGTTGTCCAGGCTAATCTCGAACTCCTGGGCCCTC				
	1801	AAACAATCCTCCCGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGAATTACAGGAGTGA				
	1851	GCCACCACACCCAGCCGTGTGTGTGTTTGGTGGGAGGGGGGGTGTTTTG				
	1901	AGACAGAGTCTCGCTCTGCCACCTAGGTTGGAGTGCAGTGATGCGATCTC				
	1951	GGCTCACTGCAACCTCCGCCCTCCTGGGTTCAAATGATTCTTCTGCCTCAG				
45	2001	CCTCTGGAGTAGCTGGGACTACAGGCACGTGCCACCATGCTGGCTAATT				
	2051	TTTTGTGTTTTTAGCAGAGACGAGGGGTTTACCCTGTTAGCCAGGATGG				
	2101	TCTCGATCTCCTGACCTCGTGATCTGCCCCCTTGGCCTCCCAGGCCTGA				
	2151	GCCACTGCCTCAGGCCTGAGCCTGGGGGGATTACAGCGGGGATTACAGG				
	2201	CCTGAGCCACCGCGCCAGCCATGTGTGAACCACCGCGCCAGCCATTCA				
	2251	TGTGTTATTAATGTCCCTTTTTTGGGACTATGTACCTTGTTCCTCGT				
50	2301	GATATTATTTGTGTGTATGTCTGTCTCCACGGACTCTATCCCTCCATCCT				
	2351	GAACTCCCCCTTGGACACCATGTATAGGGGGTGATGGTCAGTGGGTAGGG				
	2401	CCCCTTTCCACGACTTAGCCGGCTGCTGCGAGCGTGCTTACGGGGACCG				
	2451	CGGCCTGACACCGTATCTTGCCCTCTCAACAGCCTTGGGGCGCGCGGCC				
55	2501	ATGGAGTCGGGGCTGCTGCGGCCGGCGCCGGTGAGCGAGGTATCGTCCT				
	2551	GCATTACAATAACACCGGCAAGCTCCGCGGTGCGCGCTACCAGCCGGGTG				
	2601	CCGGCCTGCGCGCGGACGCGGTGGTGTGCTGGCGGTGTGCGCCTTCATC				
	2651	GTGCTAGAGAATCTAGCCGTGTTGTTGGTGCTCGGACGCCACCCGCGCTT				
	2701	CCACGCTCCCATGTTCTGCTCCTGGGCAGCCTCACGTTGTTCGGATCTGC				
	2751	TGGCAGGCGCGCCTACGCCGCCAACATCCTACTGTCCGGGGCGCTCACG				
60	2801	CTGAAACTGTCCCCGCGCTCTGGTTCGCACGGGAGGGAGGCGTCTTCGT				
	2851	GCGACTCACTGCGTCCGTGCTGAGCCTCCTGGCCATCGCGCTGGAGCGCA				
	2901	GCCTCACCATGGCGCGCAGGGGGCCGCGCCGCTCTCCAGTCGGGGGCGC				
	2951	ACGCTGGCGATGGCAGCCGCGCCTGGGGCGTGTGCTGCTCCTCGGGCT				

65

3001 CCTGCCAGCGCTGGGCTGGAATTGCCTGGGTGCGCTGGACGCTTGCTCCA  
3051 CTGTCTTCCGCTCTACGCCAAGGCTACGTGCTTTCTGCGTGCTCGCC  
3101 TTCGTGGGCATCCTGGCCGCTATCTGTGCACTTACGCGCGCATCTACTG  
3151 CCAGGTACGCGCCAACGCGCGGCGCTGCCGGCAGGCCCCGGGACTGCGG  
3201 GGACCACCTCGACCCGGGCGCGTCGCAAGCCGCGCTCGCTGGCCTTGCTG  
3251 CGCACGCTCAGCGTGGTGTCTCTGGCCTTTGTGGCATGTTGGGGCCCCCT  
3301 CTTCTGTGCTGTTGCTCGACGTGGCGTGCCCGCGCGCACCTGTCTGT  
3351 TACTCCTGCAGGCCGATCCCTTCTGGGACTGGCCATGGCCAACCTCACTT  
3401 CTGAACCCCATCATCTACACGCTACCAACCGCGACCTGCGCCACGCGCT  
3451 CCTGCGCCTGGTCTGCTGCGGACGCCACTCCTGCGGCAGAGACCCGAGTG  
3501 GCTCCCAGCAGTCGGCGAGCGCGGCTGAGGCTTCCGGGGGCTGCGCCGC  
3551 TGCTTCCCCCGGGCCTTGATGGGAGCTTACGCGGCTCGGAGCGCTCATC  
3601 GCCCCAGCGCGACGGGCTGGACACCAGCGGCTCCACAGGCAGCCCCGGTG  
3651 CACCCACAGCCGCCCGGACTCTGGTATCAGAACC GGCTGCAGACTGACAC  
3701 CCTCGGCCCCAGACTGTCTTCCCAAGTTTACAGACTTGTCTTTTACA  
3751 TAAAGGAATTTGTAGGAAATGCAGCCAAAGGTGCAGTCGGAAAAGATGCA  
3801 GGGGAAATGTATTTATGCAGCGACACCCACAATGTGAACAAACAGACAA  
3851 AAAATCTGTGCCCTCGTGGAAATGACGTTCTGCTTGGGAACACAGAAAAG  
3901 AACTCGGTGATGAAATAATGGAGATGATTCCAGTGACAAACGACAGAGAT  
3951 GGTGATGGTGGTCAGGGAAGACCTCTCTGCAGAGGTAGTGACTTGTGATG  
4001 TGAGCTGAGACCTCTGTCTGGGAAGACCAAAAGAAAAGCATTTTCAGGAT  
4051 GAGGGAATGGCATGCGCAAAGGCCCTGAGGCTGAAATGTGCCCATGTGTT  
4101 CTAAGAAATGCAGCGATGCTGGTGTGCCTGGAGCAGGGACGGAGGGGGAG  
4151 AATGGGAGGAGACAAGGAGCTGAAGGAGTAGTTCCCGAAGGACCTTGTGG  
4201 GTGATATAGAGGACTTCGCTTTTGCTCTGAGTGAGGTGGGAGCCATAGAA  
4251 GCTTCTAAGCAGAAGAGGGACTTGCCCTAATTCAGGTGATCACAGGTGTC  
4301 TTGTGGCCTCCATGGGAGGTTGAAAACCAGAGAAGGTGAAGGGGGGCTGC  
4351 ACTGAGCCACAGGAACAATGATGGAGATTCCAGCTAAGCCCAGACCCCGT  
4401 GGATTCTAGATAGATTTTAGAGGCAGCAGACAGAATTACTGAGGAATTGA  
4451 GTGTAAGAGTGGAAATAAAGTTATCAAGGACAATGCCAAGGGTGGGGCACC  
4501 CCCAAATTTGACTCTGGGAGACTCAGCCAAATCCTATCTGGTAATAAAAT  
4551 TTCTTTTTTATTTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTTTTTTTTTTTGAG  
4601 TTGGGATCTGTGCTCTGTCAACCAGGCTGGAGTGCAATGGGCACAATTA  
4651 TAGCTCACTGCAGCCTGGAACCTCCTGGGATCAAGCCTGGAGTTCCTGCTT  
4701 CAGCCTCCCTAGTAGCTGGGACTACAGGCATGCACCACCATGCCAGTTA  
4751 ATAAATTTCTTCAAATGCAGTTTCAGATCCTTCATTAAGAAATAATA  
4801 ATAATAGGCTGGGTGCCGTGACTCATGCCTCTAACCCAGCACTTTGGGA  
4851 GGCAGAGGTGGGCAGATCACCTGATGTCAAGAGTTTGAGACCAGTTTGGC  
4901 CAACATGGTGAAACCCCATCTCTACTAAAAATACCAAAATTAGCCAAGTG  
4951 TGATGGCTTACGCATATAGTTCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGA  
5001 ATCCCTTGAAACTGGGAGGCGGAGGTTGCAAAGAGCTGCACTCCAGCCTG  
5051 GGTAACAAAGTGAGACTCGGTCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGATA  
5101 ACAAATAAGGCCAGACACAGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAACACTTTG  
5151 GGAGGCTGAGGCAGAAGGATCGATTGAGGCTGGGAGTTTGAGACCAGCCT  
5201 GGTCAACATAGTGAGACCCCATCTCTACAAAAATTTTAAAAATTAGGCA  
5251 GTTGTGGTTACGCATGCCTATAGTCACAGCTACTGGGGAGGCTGAAGAAG  
5301 GAGGATTTCCAGAACCCAGGAGCTCAGGGGCTGCAGTGAGCTATTTTGC  
5351 ATAACGAACTCCAGCCTGTGTGATGAAATCATGTCTTTTAGGAAAACAT  
5401 AAGAGGTTTTTGGTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTGAGATGGAGGCTCA  
5451 CTCTATACCCAGGCTGGAGTGCACTGGCGCAATCTCGGCTCACTGTAAG  
5501 CTCCACCTCCAGGTTACGCCATTCTCCTGCCTCAGCTTCCCAAGTAGC  
5551 TGGGACTACAGGTGCCCGCCACCAAGCATGGCTAATTTTTTGTATTTTT  
5601 AGTAGAGATGGGGTTTCACAGTGTAGCCAGGATGGTCTT

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

## MBHB-Rezept-15: hEDG-8 cDNA

2501 ATGGAGTCGGGGCTGCTGCGGCCGGCGCCGGTGAGCGAGGTCATCGTCCT  
 5 2551 GCATTACAATACACCGGCAAGCTCCGCGGTGCGCGCTACCAGCCGGGTG  
 2601 CCGGCCCTGCGCGCCGACGCCGTGGTGTGCTGCGGTGTGCGCCTTCATC  
 2651 GTGCTAGAGAATCTAGCCGTGTTGTTGGTGCTCGGACGCCACCCGCGCTT  
 2701 CCACGCTCCCATGTTCTGCTCCTGGGCAGCCTCACGTTGTTCGGATCTGC  
 2751 TGGCAGCGCGCCCTACGCCCAACATCCTACTGTCGGGGCCGCTCACG  
 10 2801 CTGAAACTGTCCCCCGCGCTCTGGTTCGCACGGGAGGGAGGCGTCTTCGT  
 2851 GGCACCTCACTGCGTCCGTGCTGAGCCTCCTGGCCATCGCGCTGGAGCGCA  
 2901 GCCTCACCATGGCGCGCAGGGGGCCCGCGCCCGTCTCCAGTCGGGGGCGC  
 2951 ACGCTGGCGATGGCAGCCGCGCCCTGGGGCGTGTGCTGCTCCTCGGGCT  
 3001 CCTGCCAGCGCTGGGCTGGAATTGCCTGGGTGCGCTGGACGCTTGCTCCA  
 15 3051 CTGCTTGTCCGCTCTACGCCAAGGCCTACGTGCTCTTCTGCGTGCTCGCC  
 3101 TTCGTGGGCATCCTGGCCGCTATCTGTGCACTTACGCGCGCATCTACTG  
 3151 CCAGGTACGCGCCCAACGCGCGCGCCTGCCGGCAGGCCCGGGACTGCGG  
 3201 GGACCACCTCGACCCGGGCGCGTGCAGCCGCGCTCGTGGCCTTGCTG  
 3251 CGCACGCTCAGCGTGGTGTCTCTGGCCTTTGTGGCATGTTGGGGCCCCCT  
 3301 CTTCTGCTGCTGTTGCTCGACGTGGCGTGCCCGCGCGCACCTGTCTG  
 20 3351 TACTCTGCAGGCCGATCCCTTCTGGGACTGGCCATGGCCAACCTCACTT  
 3401 CTGAACCCCATCATCTACACGCTCACCAACCGCGACCTGCGCCACGCGCT  
 3451 CTTGCGCCTGGTCTGCTGCGGACGCCACTCCTGCGGCAGAGACCCGAGTG  
 3501 GCTCCCAGCAGTCGGCGAGCGCGGCTGAGGCTTCCGGGGGCTGCGCCGC  
 3551 TGCCTGCCCCCGGGCCTTGATGGGAGCTTACGCGGCTCGGAGCGCTCATC  
 25 3601 GCCCCAGCGGACGGGCTGGACACCAGCGGCTCCACAGGCAGCCCCGGTG  
 3651 CACCCACAGCCGCCGGACTCTGGTATCAGAACCGGCTGCAGACTGACAC  
 3701 CCTCGGCCACGACTGTCTTCCAAG

## 30 MBHB-Rezept-15: hEDG-8 Aminosäuresequenz

MESGLLRPAP VSEVIVLHYN YTGKLRGARY QPGAGLRADA VVCLAVCAFI VLENLAVLLV  
 LGRHPRFHAP MFLLLGSLTL SDLLAGAAYA ANILLSGPLT LKLSPALWFA REGGVFVALT  
 ASVLSLLAIA LERSLTMARR GPAPVSSRGR TLAAMAAAWG VSLLLGLLPA LGWNCLGRLD  
 35 ACSTVLPPLA KAYVLFVLA FVGILAAICA LYARIYCQVR ANARRLPARP GTAGTTSTRA  
 RRKPRSLALL RTLSVLLAF VACWGFLFLL LLLDVACPAR TCPVLLQADP FLGLAMANSI  
 LNPIIYTLTN RDLRHALLRL VCCGRHSCGR DPSGSQQSAS AAEASGGLRR CLPPGLDGSF  
 SGERSSPQR DGLDTSGSTG SPGAPTAART LVSEPAAD

## 40 Patentansprüche

1. Dieses Patent soll sich erstrecken auf folgende Daten, Techniken und Anwendungen und Entwicklungen:  
Das dargestellte Gen inclusive des 5' und 3' nichttranslatierten Bereichs.
2. Transkriptionsfaktoren, RNA Polymerasen und Pharmaka sowie Chemikalien die die Expression des Gens in  
45 positiver oder negativer Weise beeinflussen.
3. Die von dem Gen transkribierte messenger RNA inclusive davon abgeleitete Spleißvarianten und Isoformen.
4. Die von der mRNA oder von dem intronlosen Gen abgeleitete cDNA.
5. Das von der mRNA (oder dem Gen oder der cDNA) abgeleitete oder hergestellte Protein.
6. Antikörper oder Antiseren, welche gegen einzelne oder mehrere Epitope des Proteins oder gegen das ganze Pro-  
50 tein hergestellt werden.
7. Monoklonale Antikörper oder Antiseren, die gegen einzelne oder mehrere Epitope des Proteins oder gegen das  
ganze Protein hergestellt werden.
8. Expressionssysteme (eukaryotische Zelllinien, Hefezellen, Xenopus Oocyten, Baculovirussysteme, Insektenzell-  
systeme, bakterielle Expressionssysteme), welche das genannte Protein exprimieren (nativ oder recombinant).
- 55 9. Ligand Bindungsstudien und Screening-Assays an nativen oder recombinanten Rezeptoren oder Zellen oder  
Zellmembranen, welche diesen Rezeptor enthalten.
10. Transgene Tiere und knock-out Tiere, welche diesen Rezeptor oder die entsprechende Speziesvariante in ver-  
änderter Dichte oder gar nicht exprimieren.
11. Methoden der Gentherapie, welche sich auf diesen Rezeptor bzw sein Gen oder seine mRNA (cDNA) erstrek-  
60 ken und deren Entwicklung und Anwendung.
12. Sense- und Antisense-Oligonukleotide, welche von diesem Gen abgeleitet wurden sowie deren Anwendung.
13. Die Diagnose und Behandlung von Krankheiten, die mit diesem Rezeptor in direkter oder indirekter Weise in  
Verbindung stehen.
14. Methoden zur Diagnose von Erkrankungen, die mit diesem Rezeptor (oder dessen Gen, mRNA) in direkter  
65 oder indirekter Weise in Verbindung stehen wie z. B. Hybridisierungstechniken, Sequenzierung, SSCP, RFLP, North-  
ern Blot, Southern Blot, Western Blot, Expressions-Arrays, Antikörper, Mutationsanalysen.
15. Die Benutzung der Informationen zur Entwicklung neuer Pharmaka, Verbindungen und Chemikalien und die  
Evaluierung vorhandener Pharmaka, Verbindungen und Chemikalien sowie zur Entwicklung neuer Technologien

# DE 100 28 901 A 1

oder Evaluierung vorhandener Technologien.

16. Das Patent soll sich auch erstrecken auf die Punkte 1. bis 15. für modifizierte Proteine und Gen-, cDNA- und mRNA-Sequenzen (Aminosäureaustausche, Basenaustausche).

17. Diagnostische, therapeutische und gentherapeutische Verfahren und Pharmaka zur Therapie und Diagnose der multiplen Sklerose und anderer demyelinisierenden Erkrankungen welche mit diesem Gen bzw dem von diesem Gen kodierten Rezeptor in Zusammenhang stehen. 5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -